

Występowanie grzybów z rodzaju *Candida* w układzie oddechowym mieszkańców województwa olsztyńskiego

MARIA DYNOWSKA

Zakład Botaniki Instytutu Biologii Wyższej Szkoły Pedagogicznej w Olsztynie

Dynowska M.: (Department of Botany, Institute of Biology, Teachers Training College, Żołnierska 14, 10-561 Olsztyn, Poland).

The Occurrence of some Candida fungi genus in people respiratory system of Olsztyn district. Acta Mycol. 26(1): 99-107, 1990.

The character of the present research is generally tentative. The research aimed at isolating the most frequently occurring fungi of *Candida* genus in people respiratory system.

WSTĘP

W związku z ciągle wzrastającym zagrożeniem zakażeń grzybiczych, w znacznym stopniu przypisywanym intensyfikacji wdrażania chemoterapii przeciwbakteryjnej, celowa wydawała się analiza grzybów z rodzaju *Candida*, które najczęściej pojawiają się w układzie oddechowym człowieka. Na uwagę zasługuje fakt, że kilka spośród badanych gatunków (*Candida albicans* Berkhout, *C. stellatoidea* Langeron et Guerra i *C. parapsilosis* Langeron et Talice) było izolowanych wcześniej z różnych owoców i nasion.

Rodzaj *Candida* (rodzina *Cryptococcaceae*, rząd *Endomycetales*) teoretycznie został utworzony w 1923 roku przez Berkhouta jako jednostka wydzielona z rodzaju *Monilia*. Praktycznie został zaakceptowany przez mikologów dopiero w roku 1923 (L o d d e r, K r e g e r v a n R i j 1961).

MATERIAŁ I METODY

Dzięki współpracy z Pracownią Bakteriologii Specjalistycznego Zespołu Gruźlicy i Chorób Płuc w Olsztynie udało się pozyskać interesujący materiał grzybowy pochodzący z układu oddechowego człowieka (wymazy z jamy ustnej i gardła, płwocina, materiał bronchoskopowy). Analizie poddano próby uzyskane od stu pacjentów.

Tabela 1 – Table 1

Zestawienie badanych grzybów

List of analyzed fungi

| Gatunki – Species | | |
|---|--|---|
| występujące pojedynczo (occurring as single) | występujące pod dwa (occurring in cluster of two) | występujące po trzy (occurring in cluster of three) |
| <i>C.albicans</i> Berkhout | | |
| <i>C.crusei</i> Berkhout | | |
| <i>C.quilliermondii</i> Langeron et Guerra | | |
| <i>C.parapsilosis</i> Langeron et Talice | | |
| <i>C.pseudotropicalis</i> Basgal | | |
| <i>C.stellatoidea</i> Langeron et Guerra | | |
| <i>C.utilis</i> Lodder et Kreger van-Rij | | |
| | <i>C.albicans</i> <i>C.parapsilosis</i> | |
| | <i>C.albicans</i> <i>C.pseudotropicalis</i> | |
| | <i>C.albicans</i> <i>C.stellatoidea</i> | |
| | <i>C.crusei</i> <i>C.quilliermondii</i> | |
| | <i>C.crusei</i> <i>C.stellatoidea</i> | |
| | <i>C.parapsilosis</i> <i>C.stellatoidea</i> | |
| | <i>C.pseudotropicalis</i> <i>C.stellatoidea</i> | |
| | <i>C.pseudotropicalis</i> <i>C.utilis</i> | |
| | | <i>C.albicans</i> <i>C.quilliermondii</i> <i>C.stellatoidea</i> |
| | | <i>C.pseudotropicalis</i> <i>C.stellatoidea</i> <i>C.utilis</i> |

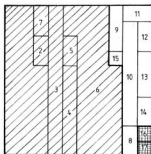
Hodowle oraz obserwacje makroskopowe i mikroskopowe prowadzono opierając się na ogólnie przyjętych metodach stosowanych w pracowniach mikologicznych. Podstawowe podłoże do hodowli płytkowych i skosów stanowił agar Sabourauda, a do mikrohodowli szkiełkowych podłoże Nickersona według modyfikacji Rzucidły (K o w s z y k-G i n d i f e r, S o b i c z e w s k i 1986; K u r n a t o w s k a 1978). Sprawdzono również zdolność fermentacji cukrów używając zymogramu zawierającego glukozę, galaktozę, maltozę i sacharozę.

Przy identyfikacji gatunków wykorzystano prace: L o d d e r, K r e g e r v a n R i j (1961); C h o d k o w s k a i w s p. (1968); O t č e n á š e k, D w o ř á k (1973); R i e t h (1983).

WYNIKI

W toku badań w układzie oddechowym znaleziono siedem gatunków grzybów z rodzaju *Candida*, które występowały pojedynczo, po dwa lub po trzy u jednego pacjenta (tab. 1). Udział tych ostatnich był znikomy.

Najczęściej izolowane były: *C. stellatoidea* i *C. albicans*. Nieco rzadziej, ale z równą częstością pojawiały się: *C. quilliermondii* i *C. parapsilosis*. Od kilku pacjentów uzyskano szczepy: *C. crusei*, *C. pseudotropicalis* i *C. utilis* (Tab. I, II). Jeżeli obok siebie wyrastały dwa gatunki jednocześnie, to wzrost ulegał niekiedy modyfikacji. Przykładem może być *C. albicans* i *C. stellatoidea*, które często sobie towarzyszyły. Procentowy udział poszczególnych izolatów w badanym materiale przedstawia ryc. 1.

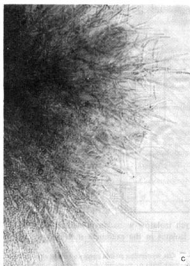
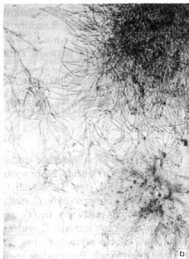
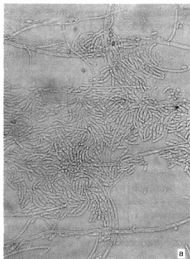


Ryc. 1. Procentowy udział poszczególnych izolatów w badanym materiale
Percentage participation of particular isolates in the examined material

2-7. Gatunki występujące pojedynczo (species occurring as single); 8-15. Gat. występujące po dwa (species occurring as in cluster of two); 16, 17. Gat. występujące po trzy (species occurring in cluster of three); liczby na diagramie odpowiadają kolejnym numerom izolatów w tab. 1 (number on the diagram correspond to the successive numbers of isolates in tab. 1)

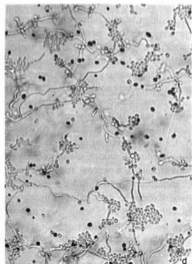
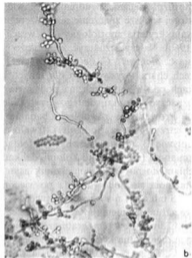
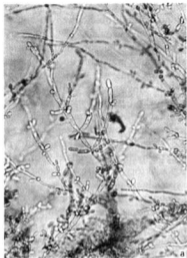
Tablica I – Plate I

a – *Candida stellatoidea*; b – *C. albicans*; c – *C. quillermossii*; d – *C. parapsilosis*



Tablica II — Plate II

a — *Candida crusei*; b — *C. pseudotropicalis*; c — *C. antix*; d — *C. albicans* i *C. stellatoidea*



DYSKUSJA

Obserwowane grzyby, podobnie jak liczne patogeny, charakteryzuje dymorfizm znacznie utrudniający prawidłową i szybką ich identyfikację, podczas której większe znaczenie niż w szeregu badaniach mikrobiologicznych odgrywają kryteria morfologiczne. Zwraca na to uwagę również W e y m a n (1960). Należy zaznaczyć, że podłoże Nickersona przeznaczone do różnicowania *C. albicans* i *C. stellatoidea* okazało się również przydatne do uchwycenia cech charakterystycznych dla innych gatunków. Ponieważ w wielu przypadkach po 48 godzinach, na podstawie wyglądu nibystrzępek, nie można było oznaczyć gatunku, dlatego grzyby identyfikowano po upływie tygodnia.

Prowadzone równoległe badania rekonesansowe dotyczące możliwości przetrzymywania hodowli i trwałości cech gatunkowych sugerują, że po upływie 3 miesięcy cechy morfologiczne i fizjologiczne ulegają istotnym zmianom (inny wygląd kolonii, delikatniejsze nibystrzępki, rzadziej tworzą się chlamydozozory, następuje zanik asymilacji niektórych cukrów). Problemowi starzenia się hodowli będą poświęcone specjalne badania.

S c h a b i ń s k i (1960) twierdzi, że cechy makroskopowe i mikroskopowe gatunku zmieniają się w zależności od temperatury: inne są w temperaturze 37°C, inne – w temperaturze pokojowej – 24°C (25°C). Zaleca w związku z tym dwukrotną kontrolę, pierwszą po 48 godzinach inkubacji w temperaturze 37°C, drugą – po tygodniu, a nawet miesiącu inkubacji w temperaturze pokojowej. Ponadto S c h a b i ń s k i uważa, że dodawanie antybiotyków do podłoża w celu hamowania rozwoju bakterii również wpływa na modyfikację wzrostu. Jako przykład podaje *C. albicans*, która w pewnych warunkach tworzy kolonie podobne do *C. crusei*. Dlatego też w badaniach własnych do podłoży nie dodawano antybiotyków zalecanych przez laboratoria mikologiczne. Przesiewano grzyby na świeże podłoża Sabourauda, co po kilku pasażach pozwoliło uzyskać czyste bezbakteryjne szczepy.

Zauważono, że wzrost grzybów ulegał modyfikacji wówczas, gdy obok siebie wyrastały po dwa lub trzy gatunki. Najczęściej pojawiały się *C. stellatoidea* i *C. albicans*. Najrzadziej spotykano *C. crusei*, *C. pseudotropicalis* i *C. utilis*. Natomiast grzybami, które często towarzyszyły sobie, były *C. stellatoidea* i *C. albicans*. W takim układzie nibystrzępki u drugiego gatunku zawsze były delikatniejsze, a wzrost nieco słabszy. Mogłoby to wskazywać na dominację *C. stellatoidea* nad *C. albicans*, czy też na większą jej witalność. Równocześnie stwierdzono, że dwa gatunki mogą występować w jednej hodowli nie wpływając zupełnie na swój wzajemny rozwój. Przykładem może być *C. pseudotropicalis* i *C. stellatoidea*.

Plecha badanych grzybów zbudowana jest z kulistych, owalnych, wrzecionowatych lub cylindrycznych komórek wegetatywnych tworzących blastozozory. Niektóre charakteryzuje zdolność wytwarzania nibystrzępek z nieoddzielo-

nych od komórki macierzystej diaspor. W warunkach głodowych lub w normalnym cyklu rozwojowym (na przykład *C. albicans*) tworzą się kuliste chlamydospory o grubej ścianie i różnym umiejscowieniu na nibystrzępkach: chlamydospory szczytowe, boczne lub interkalarne (Kurnatowska 1986).

Z przeglądu literatury wynika, że dotychczas badania nad rodzajem *Candida* szły w dwóch kierunkach: — w kierunku badania morfologii i biologii tych grzybów z zastosowaniem wyników w systematyce (Skinner 1947; Ingram 1955; Lodder, Keger van-Rij 1961; Burnett 1968; Lodder 1970; Webster 1983) oraz w kierunku medycznym (Schabiński 1960; Connant 1971; Seeliger, Tomsikova, Török 1974; Gemeinhardt 1976; Emmons, Binford 1977; Braun 1978; Helander 1978; Bolter, Nuijten 1981; Rieth 1983). W literaturze polskiej dominuje drugi kierunek (Weyman 1960; Dmochowska, Buluk 1964; Alkiewicz 1966; Chodkowska i wsp. 1968; Kurnatowska, Żabińska 1969; Cisowski 1971; S. Majewski 1973; Kowszyk-Gindifer, Sobiczewski 1986).

Mimo, iż w większości przypadków grzyby z rodzaju *Candida* są stałym składnikiem mikroflory każdego człowieka coraz częściej mówi się, że stanowią one poważny czynnik etiologiczny wywołujący choroby określane mianem kandydoz. Mikologia lekarska wyraźnie określa ich przyczyny, jednak stosunkowo mało zajmuje się porównywaniem i zmiennością czynnika chorobotwórczego. Ten aspekt wydaje się być ważny zarówno z biologicznego jak i medycznego punktu widzenia.

W badaniach bakteriologicznych obecność grzybów jest łatwa do przeoczenia, ponieważ rutynowe badanie mikrobiologiczne mieści się na ogół w granicach 48 godzin do 3-4 dni, podczas, gdy obserwacje mikologiczne wymagają 7 dni i więcej. Znalazło to potwierdzenie w badaniach własnych. Tak więc czas oczekiwania na wynik w aspekcie badań terapeutycznych jest zbyt długi. Dlatego też należy prowadzić jak najwięcej badań nad wzrostem i rozwojem najczęściej występujących grzybów w układzie oddechowym. Być może pozwoli to na rozwiązanie niektórych problemów diagnostyki mikologicznej.

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

1. Z układu oddechowego człowieka wyizolowano siedem gatunków grzybów z rodzaju *Candida*.

2. Najczęściej pojawiającymi się gatunkami były: *C. stellatoidea* i *C. albicans*. Rzadziej, ale z taką samą częstością pojawiały się: *C. quilliermondii*,

C. pseudotropicalis, *C. crusei* i *C. parapsilosis*. Sporadycznie obserwowano *C. utilis*.

3. Wzrost badanych grzybów ulegał niekiedy modyfikacji, jeśli obok siebie wyrastały jednocześnie dwa lub trzy gatunki.

SUMMARY

Seven species of *Candida* genus were isolated from human respiratory system (throat and mouth swabs, sputum, bronchus discharge). The most frequent species were: *C. stellatoidea* and *C. albicans*. The rarer were: *C. quilliermondii*, *C. pseudotropicalis*, *C. crusei* and *C. parapsilosis* but they appeared with the same frequency. *C. utilis* was rarely found. Sometime the growth of the fungi underwent some modification in case two or three species developed simultaneously side by side.

LITERATURA

- Alkiewicz J., 1966, Mikologia lekarska. Warszawa.
- Bolter A. A., Nuijten S. T. M., 1981, Mykosen. 24: 156-166.
- Braun W., 1978, Aktuelle Probleme der Medizinischen Mykosen. VEB Volk und Gesundheit: 61-72.
- Burnett J. H., 1968, Fundamentals of Mycology. Arnold, Ltd. London.
- Cisowski R., 1971, Grzybice jamy ustnej. Czas. Stomat. 24: 19.
- Chodkowska S. i wsp., 1968, Atlas grzybic układu oddechowego. Warszawa.
- Connant N. F., 1971, Manual of Clinical Mycology. W. B. Saunderson Comp. Philadelphia-London-Toronto.
- Dmochowska M., Buluk H., 1964, Występowanie drożdżaków z rodzaju *Candida* w jamie ustnej u dzieci szkolnych miast i wsi. Czas. Stomat. 17: 427.
- Emmons C. W., Binford C. H., 1977, Medical Mycology. Lea, Fabiger, Philadelphia.
- Gemeinhardt H., 1976, Endomykosen der Menschen. J. Fischer, Jena.
- Helander J., 1978, Mykosen. 21: 71-80.
- Ingram M., 1955, An Introduction to the Biology of Yeasts. Pitman, London: 1-273.
- Kowszyk-Gindifer Z., Sobieczewski W., 1986, Grzybice i sposoby ich zwalczania. Warszawa.
- Kurnatowska A., 1978, Przewodnik do ćwiczeń z mikologii lekarskiej. Warszawa.
- Kurnatowska A., 1986, Ważniejsze dane o grzybicach chorobotwórczych. [W:] Grzybice i ich zwalczanie. Warszawa: 46-89.
- Kurnatowska A., Żabińska O., 1969, Grzybice występujące w biocenozie jamy ustnej. Czas. Stomat. 22: 98.
- Lodder J., 1970, The Yeasts, a taxonomical study. 2 ed. North-Holl. Publ. Comp. Amsterdam-London.
- Lodder J., Kreger van Rij N. J. W., 1961, The Yeasts a taxonomical study. North-Holl. Publ. Comp. Amsterdam: 459-594.
- Majewski S., 1973, Biocenoza jamy ustnej – zagadnienia wybrane. Normalna flora bakteryjna i grzybicza jamy ustnej. Czas. Stomat. 26: 1369.
- Oičenášek M., Dwořák J., 1973, Pictorial Dictionary of Medical Mycology. Acad. Praga.
- Rieth H., 1983, Grzybice wywołane przez drożdżaki. Warszawa.

- Schabiński G., 1960, Grundriss der Medizinischen Mykologie, Ed. Fischer Jena.
- Seeliger H. P. R., Tomsikova A., Török I., 1974, Mykosen, 18(2): 51.
- Skinner C. E., 1947, Bact. Rev. 11: 227.
- Webster J., 1983, Pilze. Eine Einführung, Berlin-Heidelberg-New York.
- Weyman D., 1960, Morfologiczne i biologiczne podstawy rozpoznawania grzybów drożdżopodobnych i tzw. drożdży chorobotwórczych. Patol. Pol. XI: 351.